

# 結核免疫に関する研究

## 第 19 報

### 結核菌菌体浸出液の免疫学的研究

#### 第4編 BCG 浸出液について

金沢大学結核研究所細菌免疫部（主任：柿下正道教授）

山 本 純 夫

（受付：昭和34年8月1日）

## 緒 言

Mycobacteria についての型特異性の追求は Seibert<sup>ら</sup>をはじめとし、多くの研究者により活発に試みられてきたところであるが、結核予防対策上 BCG 接種が広く行われるようになってからは、臨床的意義をも加えてその必要性が一層痛感されるに至った。すなわち、これまで結核感染の指標としてきたツベルクリン皮膚反応も BCG 接種の実施により混乱を生じ、自然陽転と BCG 陽転の鑑別可能性の問題が論議的となり、ここにヒト型結核菌と BCG の型特異性を利用してこの問題を解明せんとする研究が急速に進展し、富士<sup>2)</sup>、Quaiser<sup>3)</sup> は OT “Human” と OT “BCG” の、当教室の紺田<sup>4)</sup>、本多、他<sup>5)</sup>は OA-Azo-T “Human” と OA-Azo-T “BCG” の反応原性の特異性を利用し皮

膚反応の面からの鑑別の可能性について論及しているが、満足に足る成績は得られていない。Thurston<sup>ら</sup><sup>6)7)8)</sup> は Mycobacteria の生菌低温浸出液について、Middlebrook-Dubos 反応 (M-D 反応) の面から型特異性の存在を証明しているが、この方面からの研究はきわめて少ない。

よつて私は結核菌菌体浸出液の免疫学的研究の一環として今回は BCG とヒト型結核菌青山 B 株の熱殺乾燥菌体蒸留水浸出液（それぞれ BCG-P、青山 B-P と略記）の反応原性および免疫原性について比較検討し、型特異性の問題をこの方面から追求した。以下はその成績の概要である。

## 実験材料ならびに実験方法

すべて本報第2編<sup>10)</sup>の記載に準じた。ただ

BCG-P は BCG より型のごとく作製した。

## 実 験 成 績

### I BCG-P の抗体産生能について

#### 1) BCG-P 単独免疫について

BCG-P を 2ml あて 3 日おきに 6 回ウサギに静注し、その間の M-D 抗体の消長を追求した

成績を第1図および第1表に示した。これによるとウサギ血清の BCG-P-および青山 B-P-感作血球凝集反応に対する抗体価は日を追つて上昇し最高凝集価はそれぞれ 1:128 に達した。

また最終注射 4 日後に行つた全採血時の血清の最高溶血価もそれぞれ 1:128 であり, 沈降素価は BCG-P および青山 B-P を抗原としてともに 1:4 であつた。また全採血に先立つて行つた 1:10, BCG-P をもつてする皮膚反応は陰性であつた。

## 2) BCG-P 感作血球免疫について

BCG-P 感作自家血球を 3 日おきに 6 回ウサギに静注し, その間の M-D 抗体の消長を追求した成績を第 1 図および第 2 表に示した。これによるとウサギ血清の BCG-P および青山 B-P 感作血球凝集反応に対する抗体価は日を追つて上昇し, それぞれ 1:512 および 1:1,024 に達した。また全採血時血清の最高溶血価はそれぞれ 1:256~1:1,024, 1:512~1:1,024 におよび, 沈降素価は BCG-P および青山 B-P に対してともに 1:8 であつた。また全採血前の 1:10, BCG-P をもつてする皮膚反応は陰性であつた。すなわち BCG-P についてみるに, 先の青山 B-P の成績<sup>10)</sup>と同様に単独の抗体産生能は低く, 感作血球として用いた場合は相当高い免疫原性を示したが, いずれも実験期間内には皮膚反応を陽転せしめ得なかつた。

## II BCG-P の反応原性について

ヒト型結核菌 H<sub>37</sub>Rv 株 -OT (H<sub>37</sub>Rv-OT) 感作血球, 青山 B-P, 青山 B-P 感作血球, 青山 B 株菌体および BCG 菌体を免疫原として得られた 5 種の抗血清について, BCG-P 感作血球および青山 B-P 感作血球に対する凝集価および溶血価を測定し, あわせてこれら血清に対

する BCG-P および青山 B-P の沈降原価を測定した。その成績は第 3 表に示したが, いずれの抗血清によつても BCG-P 感作血球と青山 B-P 感作血球の被凝集性および被溶血性に差のないことが明らかであり, かつ, いずれの抗血清との沈降反応においても BCG-P と青山 B-P の反応原性に差を見出し得なかつた。すなわち BCG-P が BCG 菌体免疫血清と, あるいは青山 B-P が青山 B 系免疫血清とそれぞれ特異的に反応するという現象は認められなかつた。

## III BCG-P 単独, BCG-P 感作血球, 青山 B-P 単独ならびに青山 B-P 感作血球による免疫血清の BCG-P 感作血球および青山 B-P 感作血球をもつてする交差吸収試験

上述のごとく感作血球凝集および溶血反応, あるいは沈降反応に関与する BCG-P と青山 B-P の抗原因子にはほとんど差が認められないようであつたが, なお更に両者の抗原因子の異同を追求する目的で, BCG-P 単独, BCG-P 感作血球, 青山 B-P 単独および青山 B-P 感作血球を用いて免疫した 4 種の血清について, BCG-P 感作血球および青山 B-P 感作血球による交差吸収試験を行つた。その成績は第 4 表に示したが, ここでも BCG-P と青山 B-P の間には全く差異を認めることができなかった。しかしながら注目に値することは沈降反応の抗体は前報<sup>10)</sup>においても述べたごとく, いずれの感作血球によつてもほとんど吸収されないことであつた。

## 総括ならびに考案

BCG とヒト型結核菌がそれぞれ異なる型特異性物質を有するであろうことは当然考えられるが, ここに用いた BCG-P とヒト型結核菌青山 B-P について, その抗原性を血球凝集反応, 溶血反応および沈降反応について比較したところ, 両者の間に差異を見出し得なかつた。中島<sup>11)</sup>も先に各種抗酸性菌による免疫血清につい

て, その菌体を用いて交差吸収を行つた実験の結果, ヒト型菌, BCG およびウシ型菌の P 相互間に型特異性は証明できなかったと報告している。しかるに一方 Thurston ら<sup>12,13)</sup>は 37°C で各種抗酸性生菌の蒸留水浸出液を作製し, その感作血球凝集および溶血反応の面から抗酸性菌相互の共通な抗原物質の存在ととも

に、BCG にはヒト型およびウシ型結核菌と異なる抗原因子の存在が推察されたと報告しているが、Menzel & Heidelberger<sup>12)</sup> および Landy<sup>13)</sup> は *Mycobacteria* の型特異性因子は菌体内の蛋白体に存し、血球感作にあずかる因子はおもに菌体の多糖体画分であろうと論じ、否定的見解を表明している。もちろん血球感作能因子については異論のあるところであつて、今日では純粋な菌体多糖体ではなく、むしろ蛋白との複合体であるとする考えもあつて<sup>14) 15)</sup>、Thurston<sup>ら<sup>9) 7) 8) 9)</sup></sup>の成績を全面的に否定することはできないが、著者の浸出方法をもつては明らかな型特異性を示す浸出液を得ることは困難であつた。しかして Menzel<sup>ら<sup>12)</sup></sup>および Landy<sup>13)</sup>らの観点からすれば、主として菌体蛋白に由来する

皮膚反応じやく起因子には *Mycobacterium* の型特異因子が多く含まれていることが予想され、柿下<sup>14)</sup>、Seibert<sup>12)</sup>、武谷<sup>15)</sup>らの皮膚反応物質の型特異性を指摘した報告の妥当性も考えられる。

なお小林<sup>10)</sup>が OT 感作血球免疫に比し、OT 単独静注による抗体産生は低く、ことに溶血素の産生は著しく低いと述べているのに反し、BCG-P では青山 B-P における同様の感作血球免疫に比し単独静注による抗体産生は低い、ほとんど同程度の凝集価と溶血価が認められた。このこともまたここに用いた BCG-P がヒト型結核菌 -P とその抗原性においても近いものであり、かつ OT と異なるところのあることを推定させるものである。

## 結

BCG の熱殺乾燥菌体より P を作り、その免疫学的性状をヒト型結核菌の P と比較して次の結果を得た。

1) BCG-P およびその感作血球は充分に免疫原性を有し、それぞれヒト型結核菌の P およびその感作血球のそれにほぼ等しい。

2) BCG-P 単独の抗体産生能はヒト型結核菌の P における同様に BCG-P 感作血球のそれに比しかなり劣つた。

3) H<sub>37</sub>Rv-OT 感作血球、青山 B 菌体および BCG 菌体によつて免疫されたウサギ血清に対する BCG-P ならびに青山 B-P の反応原性の

## 論

間に差を認めなかつた。

4) BCG-P 単独、BCG-P 感作血球、青山 B-P 単独ならびに青山 B-P 感作血球をもつて免疫した血清について BCG-P および青山 B-P の反応原性を比較すると、その間に差異を認めず、かつ、これら 4 種血清の BCG-P 感作血球および青山 B-P 感作血球による交差吸収試験の結果、BCG-P と青山 B-P の免疫原性の間に相違を認め得なかつた。

5) 沈降素の産生能は、B G-P 感作血球が最も強く、次いで青山 B-P 感作血球、BCG-P 単独および青山 B-P の順であつた。

## 文

- 1) Seibert, F. B. & Morley, N. : J. Immunol., 24, 149, 1933.
- 2) 富士山 : 結核, 21, 164, 1946.
- 3) Quaiser, K. : Beitr. Klin. Tuberk., 110, 507, 1954.
- 4) 紺田康 : 金大結研年報, 10, 183, 1952.
- 5) 本多幸三郎, 他 : 金大結研年報, 12, 109, 1954.
- 6) Thurston, J. R., Rheins, M. & Huziawara, T. : Am. Rev. Tuberc., 73, 563, 1956.

## 献

- 7) Thurston, J. R. & Rheins, M. : Am. Rev. Tuberc., 73, 571, 1956.
- 8) Thurston, J. R. & Rheins, M. : Am. Rev. Tuberc., 74, 756, 1956.
- 9) Rheins, M. & Thurston, J. R. : Am. Rev. Tuberc., 74, 764, 1956.
- 10) 山本純夫 : 金大結研年報, 17, 47, 1959.
- 11) 中島滋 : 金大結研年報, 13, 107, 1955.
- 12)

Menzel, A. E. O. & Heidelberger, M. : J. Biol. Chem., 124, 301, 1938. 13) Landy, M. : Am. J. Pub. Health, 44, 1059, 1954.

14) 登谷榮作 : 金大結研年報, 16, 31, 1958.

15) 中島 滋 : 金大結研年報, 13, 99, 1955.

16) 柿下正道 : 日本医師会雑誌, 31, 447, 1954. 17) Seibert, F. B. : Bibliotheca

Tuberc., 3, 1, 1950.

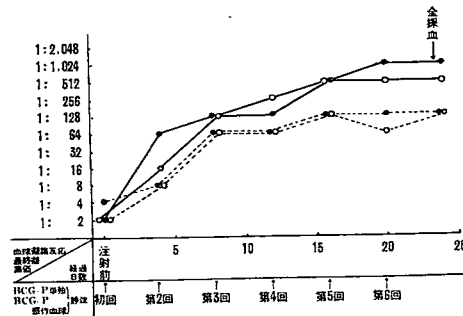
18) 武谷健二 :

科学, 22, 145, 1954.

19) 小林 博 :

金大結研年報, 14, 187, 1956.

第1図 BCG-P 免疫ウサギ血清の血球凝集反応抗体価の消長



免疫方法	血球感作原	抗体価の消長
BCG-P 単独	BCG-P 青山BC-P	○…………○ ……………
BCG-P 感作血球	BCG-P 青山BC-P	○———○ ……………

第1表 BCG-P 単独静注ウサギ血清による免疫反応  
——全採血時血清について——

<div style="display: inline-block; transform: rotate(-45deg);"> 反 応  血球の感作原  あるいは  沈降反応原 </div>	感作血球凝集反応								感作血球溶血反応								沈 降 反 応				
	血 清				希 釈				血 清				希 釈				血 清		希 釈		
	8	16	32	64	128	256	512	1,024	8	16	32	64	128	256	512	1,024	2	4	8	16	32
BCG-P	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:
青山B-P	3'	3	3'	2	1	1'	0	0	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11

第2表 BCG-P 感作血球静注ウサギ血清による免疫反応  
—全採血時血清について—

血球の感作原があるいは沈降反応原	反 応	感作血球凝集反応										感作血球溶血反応										沈降反応									
		血					清希釈					血					清希釈					血					清希釈				
		8	16	32	64	128	256	512	1,024	2,048	8	16	32	64	128	256	512	1,024	2,048	2	4	8	16	32							
BCG-P		1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:							
青山B-P		3	3	2	2	2	2	2	2	1	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+							
		3	3	3	3	3	2	2	2	1	0		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+							



第4表 4種の免疫血清に対するBCG-P感作血球と青山B-P

感作血球の交差吸収試験

被検血清 吸収血球 の感作原			反応血球 の感作原 あるいは 沈降反応原	感作血球凝集反応								感作血球溶血反応								沈降反応					
				血 清 希 釈								血 清 希 釈								血 清 希 釈					
				8	16	32	64	128	256	512	1:1,024	1:2,048	8	16	32	64	128	256	512	1:1,024	1:2,048	2	4	8	16
				1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:
BCG-P 単独 静 注	* ○	BCG-P 青山B-P	3 3 3 2	1 0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	#####++	#####++	#####++	#####++	#####++	#####++	#####++	#####++	#####++	#####++	++	++	++	++	++	
		BCG-P 青山B-P	3/3 3/2	1 1/0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	青山B-P	BCG-P 青山B-P	2/1/0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++		
青山B-P 単独 静 注	○	BCG-P 青山B-P	3 3 3 2	2/1/0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	#####++	#####++	#####++	#####++	#####++	#####++	#####++	#####++	#####++	#####++	++	++	++	++	++	
		BCG-P 青山B-P	1 1/0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++		
	青山B-P	BCG-P 青山B-P	1 0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++		
BCG-P 感作血球 静 注	○	BCG-P 青山B-P	3 3 2 2 2 2	1/0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	#####++	#####++	#####++	#####++	#####++	#####++	#####++	#####++	#####++	#####++	+++	+++	+++	+++	+++	
		BCG-P 青山B-P	0 0 0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0 0	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+++	+++	+++	+++		
	青山B-P	BCG-P 青山B-P	1/0 0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0 0	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+++	+++	+++	+++		
青山B-P 感作血球 静 注	○	BCG-P 青山B-P	3 3 3/3 3/3	2/1 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	#####++	#####++	#####++	#####++	#####++	#####++	#####++	#####++	#####++	#####++	+++	+++	+++	+++	+++	
		BCG-P 青山B-P	0 0 0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0 0	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+++	+++	+++	+++		
	青山B-P	BCG-P 青山B-P	0 0 0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0 0	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+++	+++	+++	+++		

注：\* 吸収しないことを示す